



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets 6 : C12N 15/19, C07K 14/52, A61K 38/19 // (A61K 38/19, 38:55)		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 97/44462 (43) Date de publication internationale: 27 novembre 1997 (27.11.97)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR97/00900</p> <p>(22) Date de dépôt international: 22 mai 1997 (22.05.97)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 96/06368 22 mai 1996 (22.05.96) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT PASTEUR [FR/FR]; 25-28, rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15 (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): ARENZANA-SEISDEDOS, Fernando [ES/FR]; 18, rue de Rush Moor, F-92190 Meudon (FR). VIRELIZIER, Jean-Louis [FR/FR]; 25, rue du Moulin de la Vierge, F-75014 Paris (FR). BACHELERIE, Françoise [FR/FR]; 45, rue des Morillons, F-75015 Paris (FR). BAGGIOLINI, Marco [CH/FR]; Optingenstrasse 53, CH-3013 Berne (CH). CLARK-LEWIS, Ian [AU/CA]; 423 2230 Acadia Road, Vancouver, British Columbia BV 6T 1Z3 (CA).</p> <p>(74) Mandataires: GUTMANN, Ernest etc.; Ernest Gutmann-Yves Plasseraud S.A., 3, rue Chauveau-Lagarde, F-75008 Paris (FR).</p>			
<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</p>			
<p>(54) Title: USE OF CHEMOKINE ANTAGONIST MOLECULES FOR THEIR ANTIVIRAL ACTIVITY, PARTICULARLY AGAINST AN HIV TYPE RETROVIRUS</p> <p>(54) Titre: UTILISATION DE MOLECULES ANTAGONISTES DE CHEMOKINES POUR LEUR ACTIVITE ANTIVIRALE NOTAMMENT CONTRE UN RETROVIRUS DE TYPE VIH</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention discloses the use of an antagonist compound (designated "antagonist") of one or several molecules of the chemokine family for preparing a medicine for the prevention or the treatment of a viral infection.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention concerne l'utilisation d'un composé antagoniste (appelé "antagoniste") d'une ou plusieurs molécules de la famille des chemokines, pour la préparation d'un médicament pour la prévention ou le traitement d'une infection virale.</p>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lithuanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yugoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Liberia	SG	Singapour		
EE	Estonie						

UTILISATION DE MOLECULES ANTAGONISTES DE CHEMOKINES
POUR LEUR ACTIVITE ANTIVIRALE NOTAMMENT CONTRE UN
RETROVIRUS DE TYPE VIH.

5 La présente demande a pour objet l'utilisation de composés antagonistes de molécules de la famille des chemokines ou des antagonistes des produits dérivés de chemokines ayant conservé toutes les propriétés biologiques des chemokines, lesdits composés étant caractérisés en ce qu'ils permettent d'obtenir l'inhibition d'une infection 10 virale ou de ses effets in vitro ou in vivo, lesdits composés présentant à titre préférentiel une activité anti-virale vis-à-vis d'infections dues à des rétrovirus provoquant une immunodéficience chez un hôte, et en particulier chez un patient humain, notamment des rétrovirus de type HIV ou VIH (virus de l'immunodéficience humaine).

15 Les chemokines sont des molécules de la famille des cytokines, qui présentent des propriétés d'activation, notamment de cellules de la famille des leucocytes faisant intervenir notamment des propriétés chemoattractives, des propriétés de mobilisation du calcium par augmentation du calcium intracellulaire et des propriétés de relargage 20 d'enzymes (exocytose). Ces chemokines sont connues pour leur rôle éventuel en tant que médiateurs de l'inflammation.

25 Les chemokines ont été décrites par leur structure par leur affinité pour un ou plusieurs récepteurs et par leurs propriétés biologiques dans une publication de Baggolini M. et al (Advances in Immunology (1994), vol. 55, pages 97-179).

Une publication de Wells T.N.C. et al (Journal of Leukocyte Biology, vol. 59, January 1996, 53-60) décrit la structure tri-dimensionnelle de plusieurs chemokines et leurs récepteurs spécifiques ou non.

30 De façon générale, ces chemokines sont caractérisées par la présence dans leur structure primaire, de résidus cystéine conservés (1 à

4 résidus notamment) sur la base desquels plusieurs sous-familles ont été distinguées selon la position des deux premières cystéines. Ces familles comprennent celles des protéines CXC ou des protéines CC. La présence de ces résidus cystéine induit la formation de ponts disulfure.

5 Parmi ces chemokines, différentes molécules ont fait l'objet d'études spécifiques. A cet égard, on citera la molécule RANTES décrite dans la publication de Schall T.J. et al. (The Journal of Immunology, August 1, 1988, vol. 141, 1018-1025, No. 3). La molécule RANTES (abréviation de Regulated upon Activation, Normal T-Express and presumably Secreted) a 10 été décrite dans cet article, notamment à l'aide de la séquence nucléotidique de son ADN complémentaire et à l'aide de la séquence d'acides aminés de la phase ouverte de lecture. Les propriétés biologiques de RANTES ont été décrites notamment dans l'article de Baggolini précité. Ces récepteurs, spécifiques ou non, ont été identifiés dans la publication 15 de Wells précitée ou dans les articles auxquels elle se réfère.

D'autres chemokines telles que les chemokines MIP (Macrophage Inflammatory Protein) observées, isolées et purifiées à partir de macrophages de souris (WOLPE S.D. et al, J. Ex. Med. (1988), 167-170) ont été décrites du point de vue de leurs propriétés biologiques dans 20 l'article de Baggolini et al. (1994).

Une autre catégorie de chemokines, appelées MCP (Monocyte Chemotactic Protein) a été identifiée à partir de basophiles. Dans les familles MIP et MCP, on connaît notamment les chemokines MIP1 α , MIP1 β , MCP1, MCP2 et MCP3.

25 Dans une publication de Cocchi F. et al (Science, 15 Décembre 1995, vol. 270, 1811-1815), les auteurs ont émis l'hypothèse que des molécules telles que RANTES, MIP1 α et MIP1 β produites notamment par des lymphocytes T CD8 $^{+}$, pourraient constituer des facteurs suppresseurs de la réplication des isolats primaires du VIH. Ils ont ainsi émis l'hypothèse

que les protéines RANTES, MIP1 α et MIP1 β produites par des lymphocytes T exprimant des récepteurs CD8 pourraient participer au contrôle de l'infection par un rétrovirus VIH en tant que facteur suppresseur de la réplication. Des anticorps obtenus contre les 5 chemokines RANTES ou MIP1 α ou MIP1 β ont selon Cocchi et al., la capacité de bloquer partiellement ou totalement, lorsqu'ils sont utilisés conjointement, l'activité anti-HIV des chemokines.

L'article de Cocchi et al. précité ne contient pas de données expérimentales sur le rôle et le stade de l'intervention des chemokines 10 dans le contrôle de l'infection par un rétrovirus VIH.

Les auteurs de la présente demande se sont intéressés à l'effet que peuvent exercer les chemokines sur la réplication du rétrovirus VIH et après avoir vérifié l'effet anti-viral des molécules telles que RANTES, MIP1 α et MIP1 β vis-à-vis de HIV, les inventeurs de la présente demande 15 se sont intéressés au mécanisme biologique permettant l'interférence de chemokines avec la réplication du rétrovirus VIH dans les lymphocytes T.

De façon surprenante, les inventeurs ont caractérisé des composés, dépourvus des activités biologiques des chemokines et ayant perdu notamment l'activité chemo-attractive des chemokines vis-à-vis des 20 cellules de type leucocytes, en particulier des lymphocytes ou des monocytes, composés susceptibles néanmoins de jouer un rôle dans le contrôle, voire l'inhibition, des effets d'une infection virale, en particulier d'une infection de cellules par un rétrovirus de type VIH.

Ainsi, les inventeurs ont mis en évidence que des antagonistes de 25 chemokines, par exemple des antagonistes de chemokines de la famille CXC ou de la famille CC, notamment de RANTES et/ou de MIP et/ou de MCP peuvent s'opposer à la réplication d'isolats primaires du rétrovirus VIH dans des lymphocytes du sang périphérique (PBL) normaux.

L'invention a donc pour objet un composé antagoniste encore 30 appelé « antagoniste » d'une ou plusieurs molécules de la famille des

chemokines pour l'utilisation pour le traitement ou la prévention d'une infection due à un virus et plus particulièrement à un rétrovirus du type VIH. Dans le cadre de cette définition, le composé antagoniste est utilisé notamment pour la préparation d'un médicament pour la prévention ou le 5 traitement de l'infection due à un rétrovirus de type VIH.

Dans le cadre de la présente description, le terme « antagoniste » fait référence à un composé dont la présence chez un hôte et notamment chez un patient humain, est susceptible d'affecter l'activité d'une ou plusieurs chemokines tout en ayant la capacité d'empêcher ou d'inhiber 10 une infection virale in vivo ou in vitro; en particulier, un tel antagoniste peut bloquer ou déplacer la liaison d'une ou plusieurs chemokines à un ou plusieurs récepteurs de chemokines, sur des cellules, par exemple, des lymphocytes, des monocytes ou des macrophages, et, donc le cas échéant de façon indirecte, cet antagoniste est susceptible d'affecter les propriétés 15 biologiques d'activation cellulaire de ces chemokines. Les propriétés recherchées ainsi définies de cet antagoniste peuvent être avantageusement vérifiées grâce à un test effectué in vitro sur des lymphocytes PBL normaux stimulés par un mitogène et infectés par des isolats primaires de rétrovirus VIH.

20 Selon la présente demande, on entend par l'expression « prévention ou traitement d'une infection due à un rétrovirus de type VIH » la capacité du composé antagoniste précité d'intervenir soit sur la réplication virale d'isolats primaires de VIH dans des cellules participant à l'immunité de l'hôte, et en particulier dans des lymphocytes du sang périphérique, par 25 exemple des lymphocytes T-normaux. Cette expression englobe également la prévention et le traitement des infections telles que les infections dites opportunistes ou des tumeurs précédant et/ou accompagnant le développement de la maladie SIDA et de ce fait, définies comme maladies reliées à l'infection par un rétrovirus VIH.

Le test effectué in vitro sur des lymphocytes PBL (lymphocytes du sang périphérique) infectés à l'aide de souches primaires de VIH, est une indication pertinente des propriétés thérapeutiques ou prophylactiques recherchées des antagonistes décrits.

5 Le terme « VIH » comprend les virus et rétrovirus humains ou animaux susceptibles d'induire une immunodéficiency, tels que les rétrovirus connus sous les noms de VIH-1 et VIH-2 et notamment les différents isolats caractérisés jusqu'à ce jour, qu'il s'agisse d'isolats primaires ou d'isolats modifiés pour répondre à des contraintes de culture 10 in vitro, ou des clones HIV infectieux provenant d'isolats primaires.

Les composés antagonistes selon l'invention permettent, dans le cadre du traitement ou de la prévention d'une infection due à un rétrovirus de type VIH, de diminuer la réplication et/ou la dissémination du rétrovirus dans l'organisme de l'hôte infecté et/ou de corriger le déficit immunitaire 15 résultant de cette infection ou ses manifestations.

Selon un premier mode de réalisation de l'invention, l'antagoniste est un composé susceptible d'entrer en compétition avec une ou plusieurs chemokines, pour la liaison à un ou plusieurs récepteur(s) cellulaire(s) de cette (ces) dernière(s).

20 Les molécules appartenant à la famille des chemokines sont connues pour avoir au moins pour certaines d'entre elles, la capacité de lier différents récepteurs cellulaires présents sur les cellules dérivées des lignées lymphoïde ou myéloïde, et en particulier plusieurs récepteurs présents sur des cellules de type lymphocytes, monocytes, basophiles, ou 25 éosinophiles.

L'antagoniste utilisable dans le cadre de la présente demande, peut selon un premier mode particulier de réalisation de l'invention, être sélectionné pour sa capacité à interférer avec l'interaction normale entre les chemokines et leur(s) récepteur(s) et en particulier à modifier l'accès, 30 par exemple la reconnaissance conformationnelle d'une ou plusieurs

chemokines vis-à-vis de son(ses) récepteur(s) ou encore à bloquer la liaison d'une ou plusieurs chemokines avec un ou plusieurs récepteurs cellulaires naturels de ces chemokines.

Avantageusement, cet antagoniste se substitue à une ou plusieurs 5 chemokine dans l'activité de liaison à un ou plusieurs récepteurs.

En dépit de l'existence d'une multi-spécificité de liaison des chemokines à des récepteurs cellulaires, l'invention a également pour objet selon un autre mode de réalisation particulier, des composés antagonistes sélectionnés pour leur affinité spécifique vis-à-vis d'un 10 récepteur déterminé ou d'un nombre déterminé de récepteurs de chemokines.

Selon une variante de réalisation de l'invention, l'antagoniste mis en oeuvre est choisi pour sa capacité à déplacer la liaison d'une ou plusieurs chemokines vis-à-vis d'un ou plusieurs récepteurs cellulaires de ces 15 dernières.

Selon un mode de réalisation particulièrement avantageux de l'invention, l'antagoniste a une activité de compétition avec une ou plusieurs chemokines choisies parmi RANTES, MIP1 α , MIP1 β , MCP1, MCP3.

20 Des parentés de structures ont été constatées entre les différentes chemokines précitées, en particulier entre les chemokines RANTES et MIP, tant au niveau de la séquence d'acides aminés formant la structure primaire de ces chemokines que de leurs structures secondaires ou tri-dimensionnelles telles qu'établies par la technique de spectroscopie de 25 Résonnance Magnétique Nucléaire (Wells T.N.C. et al, Journal of Leukocyte Biology, vol. 59, Janvier 1996, pages 53-60).

Les inventeurs ont constaté que des antagonistes de la molécule RANTES sont par exemple capables de lier les récepteurs de plusieurs chemokines en particulier ceux de RANTES, MCP3 et MCP1. De tels 30 antagonistes présentent des propriétés tout-à-fait intéressantes, du fait de

leur capacité à occuper les sites normalement occupés par RANTES, ladite occupation entraînant une activité anti-virale vérifiable notamment in vitro sur des lymphocytes normaux infectés par des isolats primaires de VIH.

5 Un composé antagoniste intéressant dans le cadre de la réalisation de l'invention est par exemple un composé dont la structure est dérivée de la structure d'une chemokine, par exemple d'une chemokine choisie parmi les molécules RANTES, MIP ou MCP définies précédemment.

10 On peut considérer qu'une structure est dérivée de celle d'une chemokine lorsque le composé ayant cette structure est différent par exemple dans sa nature, sa composition, sa conformation, par rapport à la chemokine de référence tout en conservant les propriétés de ladite chemokine pour la réalisation de la fonction d'antagoniste définie ci-dessus, par exemple la capacité de se lier à un ou plusieurs récepteurs.

15 De façon particulièrement avantageuse, cet antagoniste est en outre caractérisé en ce qu'il est dépourvu des propriétés biologiques de la chemokine ou des chemokines dont il affecte l'activité. A cet égard, l'invention vise des antagonistes de chemokines dépourvus des propriétés de chemoattraction habituellement reconnues aux chemokines et 20 avantageusement à la molécule RANTES.

D'autres propriétés biologiques peuvent être atténuées voire supprimées dans lesdits antagonistes.

Par exemple, l'antagoniste peut être caractérisé en ce qu'il est 25 dépourvu de la capacité de transduction d'un signal dans les cellules auxquelles il est lié par l'intermédiaire d'un ou plusieurs récepteurs déterminés. En d'autres termes, l'antagoniste est caractérisé en ce qu'il ne transduit aucune activité biologique à travers le ou les récepteurs auxquels il est lié. De façon essentielle, cet antagoniste conserve néanmoins l'activité antivirale reconnue à la molécule RANTES, à tout le moins à un

niveau permettant de réduire la réplication ou la dissémination virale ou leur effet et de façon avantageuse, de l'inhiber.

Outre la diminution, voire la disparition des propriétés chemoattractives dévolues à la molécule native RANTES, un antagoniste 5 selon l'invention peut également être caractérisé en ce qu'il est dépourvu de la capacité naturelle de la molécule RANTES d'une part à induire la libération ou l'entrée du calcium dans les cellules auxquelles elle est liée par un récepteur et/ou d'autre part, à affecter l'exocytose par relargage d'enzymes à partir de ces cellules.

10 Ainsi, l'invention met avantageusement à disposition des molécules ayant des effets anti-viraux d'une ou plusieurs chemokines qui sont néanmoins dépourvues des effets secondaires des chemokines actives.

Un antagoniste intéressant selon l'invention peut en outre être caractérisé en ce qu'il s'agit d'un polypeptide dérivé d'une chemokine, dont 15 la structure comprend au moins un, voire deux ponts disulfure.

Ainsi, selon un mode de réalisation préféré de l'invention pour l'utilisation dans le traitement d'une infection due à un rétrovirus VIH, on aura recours à un antagoniste de type polypeptidique, dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés 20 représentée à la figure 1, par substitution, addition ou délétion d'au moins un résidu d'acides aminés, ledit antagoniste étant dépourvu des propriétés chemo-attractives des chemokines vis à vis des leucocytes, en particulier des lymphocytes.

Le terme « polypeptide » fait référence à une structure d'acides 25 aminés comprenant de 10 à 100, de préférence de 10 à 70 acides aminés, laquelle structure peut être utilisée sous forme linéaire ou sous forme conformationnelle. A cet égard, l'invention concerne avantageusement des antagonistes ayant une structure correspondant à la structure conférée par la présence de plusieurs et notamment de deux ponts disulfure telle qu'on

l'observe dans les cytokines, notamment dans les molécules RANTES, MIP et MCP.

Un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES, utilisable dans le cadre de l'invention est par exemple obtenu par délétion de tout ou partie 5 de sa séquence N-terminale et en particulier par délétion de tout ou partie de la séquence comprise entre les résidus d'acides aminés 1 et 15 ou entre les acides aminés 1 et 9 ou 1 et 8 (y compris les résidus extrêmes) de la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1C.

10 Selon un mode de réalisation préféré de l'invention, l'antagoniste utilisable pour le traitement ou la prévention d'une infection due à un rétrovirus VIH est un polypeptide répondant à la séquence d'acides aminés suivante (appelée RANTES 9-68) :

15 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKKWV
REYINSLEMS ou la séquence R8-68 suivante,

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKKW
VREYINSLEMS

20 La suppression de ces résidus diminue les effets de signalisation à travers les récepteurs de chemokines occupés, tout en gardant l'activité antivirale de cet antagoniste.

Les séquences d'acides aminés sont identifiées par référence au code à une lettre habituellement utilisé.

25 Cet antagoniste peut être utilisé sous la forme de sa structure primaire ou sous une forme tri-dimensionnelle par exemple sous une forme reproduisant les caractéristiques essentielles de la structure conformationnelle de la molécule RANTES à tout le moins de la partie de cette molécule impliquée dans la liaison à son ou ses récepteur(s)

cellulaire(s). Cette structure a été rapportée dans l'article de Wells T.N.C. précité et de Chung C.W. (Biochemistry 34, 9307-9314).

Alternativement ou au contraire selon une caractéristique supplémentaire, l'antagoniste utilisable dans le cadre de l'invention est un 5 polypeptide dérivé du polypeptide RANTES lequel est représenté par sa séquence d'acides aminés à la figure 1C, par délétion de tout ou partie de sa séquence C-terminale comprise entre les résidus d'acides aminés 50 et 68, de préférence 60 et 68 de la séquence représentée à la figure 1C.

Un antagoniste dérivé du polypeptide RANTES par substitution ou 10 par mutation peut alternativement être caractérisé en ce que environ 5% à environ 10% des résidus d'acides aminés, à l'exception des résidus cystéine impliqués dans la formation de ponts disulfure, sont remplacés.

Les résidus d'acides aminés substitués peuvent l'être par des 15 acides aminés neutres, ou constituant une substitution conservatrice ou choisis le cas échéant en tenant compte de l'encombrement stérique.

A titre d'exemple des résidus lysine peuvent être remplacés par des résidus isoleucine, leucine ou valine.

A titre d'exemple, de tels antagonistes utilisables pour la réalisation de l'invention répondent à l'une des séquences d'acides aminés 20 suivantes :

MPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPEKKW
VREYINSLEMS

25 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPELLWW
REYINSLEMS

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPQLLWW
RQYINSLQMS

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWV
AQYINSLQMS

5 MTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKK
WVREYINSLEMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLW
VREYINSLEMS

10 TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VRQYINSLQMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VAQYINSLQMS

15

Selon une variante de l'invention, l'antagoniste mis en oeuvre est caractérisé en ce qu'il s'agit d'une molécule RANTES dont l'extrémité N-terminale a été allongée par addition d'au moins un résidu d'acide aminé ou alternativement d'une molécule RANTES dont les extrémités N- et C-terminales ou dont les séquences internes à ces régions N- ou C-terminales ont été allongées par addition d'un ou plusieurs résidus d'acides aminés dans des conditions permettant d'obtenir l'effet antagoniste recherché.

20 L'invention a également pour objet une séquence de nucléotides comprenant une séquence codant pour un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par déletion de tout ou partie de la séquence N-terminale de ce dernier.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, cette séquence code pour un polypeptide antagoniste tel qu'il a été défini dans les pages précédentes.

De façon préférée, la séquence de nucléotides est caractérisée en 5 ce qu'elle répond à l'enchaînement suivant :

10 CCCTGCTGCTT TGCCTACATT GCCCGCCCCAC TGCCCCGTGC
 CCACATCAAG GAGTATTCT ACACCAGTGG CAAGTGCTCC
 AACCCAGCAG TCGTCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG
 TGTGTGCCAA CCCAGAGAAG AAATGGGTTG GGGAGTACAT
 CAACTCTTG GAGATGAGCT AG
 ou à l'enchaînement suivant:

15 ACACCCCTGCTGCTT TGCCTACATT GCCCGCCCCAC TGCCCCGTGC
 CCACATCAAG GAGTATTCT ACACCAGTGG CAAGTGCTCC
 AACCCAGCAG TCGTCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG
 TGTGTGCCAA CCCAGAGAAG AAATGGGTTG GGGAGTACAT
 CAACTCTTG GAGATGAGCT AG

20

Une séquence de nucléotides selon l'invention peut le cas échéant comprendre également des séquences exogènes, notamment des séquences de régulation et/ou d'activation capables de contrôler et/ou de réguler l'expression de la séquence codant pour un antagoniste selon 25 l'invention dans une cellule hôte, in vitro ou in vivo.

Elle peut également être recombinée avec une autre séquence codante susceptible d'exprimer dans un hôte cellulaire un polypeptide d'intérêt, notamment dans le but de traiter ou de prévenir une infection due à un rétrovirus VIH ou avec une séquence codante pouvant remplir la 30 fonction de molécule porteuse. Par exemple, une séquence de nucléotides de l'invention peut être fusionnée avec tout ou partie d'une séquence codant pour la β -galactosidase. Dans ce cas, la séquence codante de la β -galactosidase contient avant le premier codon correspondant au premier

acide aminé proline de la molécule R9-68 ou R8-68, une séquence peptidique du type X-glycyl-L-propyl, reconnue spécifiquement par une collagénase, permettant ainsi la réalisation d'une coupure spécifique après le résidu glycine du polypeptide formé, libérant l'antagoniste. Cette 5 technique est décrite dans la demande de brevet européen 0115974.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, la séquence de nucléotides est caractérisée en ce qu'elle est insérée dans un vecteur d'expression ou adsorbée sur un support susceptible d'être internalisé dans une cellule eucaryote ou encore dans une bactérie capable d'entrer 10 dans des cellules eucaryotes telle que *Shigella* selon le procédé décrit par Courvalin P. et al. (C.R. Acad. Sci. Paris, 1995, **318**:1207-12). Ce vecteur est avantageusement choisi pour permettre l'expression in vitro dans un hôte cellulaire, d'un antagoniste tel que défini précédemment ou pour permettre l'expression in vivo chez un hôte auquel il est administré, 15 notamment chez un patient infecté par un rétrovirus VIH, à des fins d'expression transitoire ou continue d'un antagoniste tel que défini dans les pages qui précèdent.

Les séquences de nucléotides ainsi définies dans le cadre de l'invention sont par exemple utilisables dans le cadre d'un protocole de 20 thérapie génique visant à prévenir ou à traiter une infection due à un rétrovirus VIH. A cet égard, on pourra avoir recours à des vecteurs utilisables dans le cadre de ces thérapies, tels que ceux décrits dans les demandes de brevet internationales publiées sous les numéros WO 95/14785 et WO 94/24298.

25 Ces séquences de nucléotides peuvent aussi être administrées en faisant appel aux techniques décrites dans le brevet FR 2711670 ou dans la demande de brevet internationale WO 90/11092, pour l'expression in vivo.

De façon générale, et compte tenu des caractéristiques particulières 30 de l'infection par un rétrovirus VIH, on peut avoir recours à des vecteurs

permettant l'administration ou le relargage contrôlé voire retardé de ces séquences nucléotidiques ou de leur produit d'expression chez l'hôte traité, afin d'obtenir un effet antiviral continu ou itératif à tout le moins sur une période suffisante pour diminuer voire inhiber l'infection par le rétrovirus ou ses effets. A cet égard, des techniques telles que celles faisant appel à l'utilisation d'un gel de phosphate de calcium peuvent être utilisées pour obtenir un relargage avec effet retard d'un produit actif. De telles techniques sont par exemple décrites dans le brevet français 2 543 439.

10 Des séquences reconnues par des protéases cellulaires ou extracellulaires peuvent être utilisées pour permettre la production de formes matures des molécules antagonistes de RANTES à partir de ces vecteurs. La forme mature de la protéine RANTES est en effet produite après clivage d'une séquence de 23 acides aminés situés en amont du 15 premier résidu (sérine) de la forme active de la protéine.

Les taux sériques à atteindre chez les patients traités seraient de l'ordre de 1 à 100 nM.

20 L'invention a également pour objet un polypeptide correspondant au produit d'expression dans une cellule hôte, par exemple une cellule bactérienne ou une cellule eucaryote, notamment une cellule de levure, une cellule de mammifère, par exemple CHO, d'une séquence de nucléotides telle que définie précédemment.

Un polypeptide particulier est un polypeptide caractérisé en ce qu'il répond à l'une des séquences d'acides aminés suivantes :

25

MPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPEKKW
VREYINSLEMS

30 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPELLW
REYINSLEMS

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWV
RQYINSLQMS

5 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWV
AQYINSLQMS

MTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKK
WVREYINSLEMS

10 TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLW
VREYINSLEMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
15 VRQYINSLQMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VAQYINSLQMS

20 Un autre polypeptide antagoniste utilisable dans le cadre de l'invention est par exemple un polypeptide RANTES modifié par addition d'un ou plusieurs résidus d'acides aminés en amont de son extrémité N-terminale. Par exemple, l'addition d'une méthionine en amont du premier résidu (sérine) de la forme mature de RANTES présenterait l'avantage 25 d'inhiber la capacité chemoattractante de la chemokine tout en conservant sa capacité d'inhibition de l'infection virale, grâce à sa capacité non modifiée à se lier spécifiquement à son récepteur.

La production de molécules modifiées de RANTES ou d'autres polypeptides antagonistes peut être réalisée par synthèse chimique ou par

recombinaison et expression dans une cellule procaryote ou eucaryote par exemple dans la levure ou chez E. coli.

Selon un autre mode de réalisation avantageux de l'invention, le polypeptide est un antagoniste d'une ou plusieurs chemokines choisies 5 parmi RANTES, MIP ou MCP, caractérisé en ce qu'il est dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par substitution, addition ou délétion d'au moins un résidu d'acides aminés, ledit antagoniste étant dépourvu des propriétés chemoattractives des chemokines par exemple vis-à-vis des leucocytes, en 10 particulier des lymphocytes, ledit polypeptide étant sous forme d'un polypeptide de fusion, capable de lier le(s) récepteurs cellulaires de RANTES et/ou MIP et/ou MCP.

Les polypeptides de l'invention peuvent être préparés par génie génétique ou par synthèse chimique par exemple sur un appareil (Applied 15 Biosystems) ou par synthèse sur phase solide décrite par Merrifield, par exemple selon la technique décrite dans la demande WO 95/09868.

L'invention vise également une composition caractérisée en ce qu'elle comprend pour l'administration séparée ou simultanée un composé antagoniste d'une ou plusieurs molécules de la famille des chemokines 20 telles que définies précédemment, et un ou plusieurs agents actifs susceptibles d'être utilisés dans le traitement d'une infection par un rétrovirus VIH, par exemple un agent utilisable en chimiothérapie tel qu'un composé anti-transcriptase inverse ou anti-protéase virale ou un composé tel qu'un antagoniste du récepteur CD4 présent sur des lymphocytes de 25 patients infectés par un rétrovirus VIH ou encore un composé utilisable en immunothérapie, par exemple une cytokine et notamment l'interleukine 2.

Le cas échéant, ladite composition comprend, outre le composé antagoniste d'une ou plusieurs chemokines et une ou plusieurs substances actives en chimiothérapie antivirale, et/ou un agent de traitement des

infections opportunistes se développant lors de l'infection par un rétrovirus VIH ou lors de l'évolution de l'infection in vivo.

Les produits définis dans l'invention, qu'il s'agisse des antagonistes ou des séquences de nucléotides codant pour de tels antagonistes, le cas 5 échéant en combinaison avec d'autres éléments, sont utilisables pour le traitement de patients à tous les stades de l'infection par un rétrovirus de type VIH et notamment pour le traitement des enfants nés de mères séropositives ou des personnels soignants contaminés accidentellement. Les composés de l'invention peuvent être à cet égard administrés par 10 injection par voie intraveineuse par exemple par perfusion, par voie intramusculaire ou sous-cutanée. Dans le cas de l'utilisation en thérapie génique des composés décrits dans l'invention, on pourra avoir recours à des cellules du patient, par exemple des fibroblastes, myoblastes ou cellules hématopoïétiques traitées avec des vecteurs appropriés contenant 15 les séquences nucléotidiques de l'invention, ces cellules étant ensuite réimplantées chez le patient pour l'expression des susdites séquences de nucléotides.

L'efficacité du traitement ainsi effectué peut être évaluée en 20 contrôlant et en suivant la charge virale, plasmatique et cellulaire et en examinant l'évolution du nombre de lymphocytes porteurs de récepteurs CD4, ainsi que le statut immunologique et inflammatoire du patient.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront dans les exemples et la figure qui suivent.

25 **Figure 1** : Séquence de nucléotides et d'acides aminés de RANTES.

A: Séquence de cDNA comprenant la séquence codante

B: Séquence codante de la protéine RANTES mature

C: Séquence d'acides aminés de RANTES.

Figure 2 : Séquence de nucléotides et d'acides aminés des polypeptides R9-68 et R8-68 et de polypeptides substitués.

A: Séquence codante de R9-68 et de R8-68

B: Séquence des polypeptides R9-68 et R8-68

5 C: (a) (b) (c) Séquence des polypeptides R9-68 et R8-68 substitués dans la partie C-terminale.

EXEMPLES

10 **Evaluation de l'activité antivirale de l'antagoniste RANTES 9-68**

Un antagoniste de la chemokine RANTES a été défini et obtenu sous la forme d'un polypeptide tronqué dont la séquence d'acides aminés correspond aux résidus d'acides aminés 9 à 68 de la séquence d'acides aminés de la molécule RANTES telle que définie à la figure 1.

15 L'antagoniste RANTES 9-68 a été produit en utilisant la technique décrite dans la publication de Gong JH et al (J B C vol 271 N18, issue of may 3, 1996 p 10521-10527).

Il a été utilisé à des concentrations variables de 1000 nM à 10 nM et a été ajouté à des cultures cellulaires après infection par différents isolats de 20 VIH. A cet effet, un clone d'un isolat primaire obtenu à partir du fluide cérebrospinal d'un patient atteint de SIDA (désigné par VIH JR-CSF Koganagi Y et al Science 236: 819, 1987 et Cann AJ et al, J Virol 64: 4735, 1990) a été utilisé ainsi qu'un clone PYU2 correspondant à une souche primaire de VIH ayant un tropisme pour les lymphocytes T et les 25 monocytes et isolé à partir du cerveau (Li et al, J. Virol., 1992, vol 66-6587). Pour obtenir le clone JR-CSF, l'ADN proviral a été transfecté dans des cellules COS7 et le surnageant obtenu après trois jours de la culture transfectée contenant les particules infectieuses a été utilisé pour infecter des PBL.

La capacité antivirale de R9-68 mise en évidence dans des cellules infectées par HIV pYU2 et HIV JR-CSF était similaire à celle de MIP1a. En effet, des niveaux de suppression de la réplication virale supérieurs ou égaux à 95% des cultures contrôles infectées ont été obtenus à la 5 concentration de 10nM, la plus faible concentration de MIP1a à induire un tel effet suppresseur sur la réplication de HIV-JR-CSF ou HIV-pYU2

10 Les propriétés antivirales de l'antagoniste R9-68 ont été testées en déterminant la capacité de cet antagoniste à bloquer la réplication du virus VIH.

La capacité d'une molécule à bloquer la réplication du virus VIH a pu être testée en utilisant la technique mettant en oeuvre des leucocytes 15 isolés sur un gradient de Ficoll à partir de donneurs sains, lesquels leucocytes ont été infectés in vitro avec des isolats viraux primaires, incapables de se répliquer dans des lignées cellulaires transformées.

A cet égard, des cellules de six donneurs différents, le plus souvent 20 des blastes induits par un traitement à la phytohémaglutinine (PHA) pendant 48 à 72 heures ont été infectés pendant 2 ou 3 heures avec les isolats de VIH. La quantité d'inoculum viral a été estimée par quantification 25 de la protéine GAG P24 et s'est avérée être comprise entre 150 à 5000 picogrammes pour 10 000 000 de cellules. Après des lavages pour éliminer les particules virales résiduelles, les cellules ont été cultivées sur des microplaques de 96 trous ($2 \times 10^5/200$ microlitres) en présence des molécules testées purifiées dans un milieu de culture enrichi en interleukine 2. Les surnageants de culture ont été collectés 30 périodiquement et les cultures cellulaires ont été repiquées avec des milieux frais et les molécules testées. Dans certains cas, les blastes traités avec la PHA ont également été ajoutés pour apporter à la culture infectée

des cellules fraîches servant de cible pour VIH. La réplication virale a été mesurée en utilisant le kit ELISA P24 (Dupont de Nemours) (seuil de détection : 3 pg/ml).

Ainsi, pour un des donneurs les cellules infectées par pYU2 et 5 traitées avec R9-68 à la concentration de 1000nM ont produit 7 pg/ml de protéine p24 au jour 11 (76 et 24 pg/ml aux jours 6 et 8 respectivement). La protéine p24 n'a pas été détectée dans les cultures de ce même donneur infectées par JR-CSF en présence de R9-68 au jour 11 (62 et 15 pg/ml ont été détectés aux jours 6 et 8 respectivement). Des cultures 10 contrôles infectées par pYU2 et JR-CSF mais non traitées par R9-68 ont montré une réplication virale intense qui a généré 7 ng/ml et 113 ng/ml de protéine P24 au jour 11 respectivement. Au contraire de R9-68, l'antagoniste AAR-IL8 (1000 nM de la protéine IL8 était dépourvu d'effet antiviral.

15 Pour approfondir la connaissance des mécanismes d'interférence dans la réplication du VIH, induits par R9-68, des expériences visant l'analyse de l'internalisation de particules infectieuses et la rétrotranscription de l'ARN viral génomique en ADN proviral ont été réalisées.

20 Après infection par la souche JR-CSF de cellules mononucléées du sang activées par la PHA, en présence ou en l'absence de 100nM de R9-68, des extractions d'ADN ont été pratiquées 3h post-infection, ou d'ADN 20h post-infection. Les cultures infectées en présence de R9-68 ont été maintenues en présence de la molécule jusqu'à extraction de l'ARN ou de 25 l'ADN. Par des techniques d'amplification par PCR soit du RNA génomique rétrotranscrit in vitro, soit de l'ADN proviral, une légère diminution de l'accumulation de RNA génomique viral intracellulaire a été mise en évidence dans les cellules traitées par R9-68 par rapport aux contrôles de cellules infectées mais non traitées. En revanche l'analyse de l'ADN 30 proviral a révélé une profonde diminution du signal spécifique dans les

cellules infectées en présence de R9-68. La spécificité du signal obtenu de l'ADN proviral était démontrée par son abolition dans des cellules infectées et traitées par l'inhibiteur de la réverse transcriptase virale, 3'-azido-3'deoxythymidine (AZT). Des résultats comparables ont été obtenus 5 avec RANTES dans des expériences réalisées en parallèle avec celles ci-dessus décrites.

Ces résultats indiquent que l'interférence de R9-68 et aussi celle de RANTES, dans la réplication de l'isolat primaire HIV-JR-CSF aurait lieu précocément mais de préférence après internalisation du virus.

10 Des données similaires concernant l'activité antivirale des chemokines RANTES et MIP1 α ou de l'antagoniste R9-68 ont été obtenues lorsque des blastes traités avec la PHA provenant d'un autre donneur ont été infectés avec l'isolat JR-CSF ayant subi deux semaines de passage dans des cultures de PBL traitées avec l'IL2.

15 Dans tous les cas la viabilité des cellules traitées avec R9-68 ou avec RANTES était comparable à celle des cultures contrôles infectées mais non traitées. Les méthodes de mesure ont été faites en comparaison des thymidines tritiées ou du contage direct du nombre de cellules à la fin des périodes de culture.

REVENDICATIONS

5 1. Utilisation d'un composé antagoniste (appelé « antagoniste ») d'une ou plusieurs molécules de la famille des chemokines, pour la préparation d'un médicament pour la prévention ou le traitement d'une infection virale.

10 2. utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'infection est due à un rétrovirus de type VIH.

15 3. Utilisation selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisée en ce que l'antagoniste est un composé ayant une activité de compétition avec une ou plusieurs chemokines, pour la liaison à un ou plusieurs récepteur(s) cellulaire(s) de cette (ces) dernière(s) ou ayant une activité de blocage de l'accès de la (des) chemokine(s) audit (auxdits) récepteur(s).

20 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que l'antagoniste déplace la liaison d'une ou plusieurs chemokine(s) vis à vis d'un ou plusieurs récepteur(s) cellulaire(s) de cette (ces) dernières.

25 5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que l'antagoniste a une activité de compétition avec les chemokines RANTES et/ou MIP1 α et/ou MIP1 β et/ou MCP1 et/ou MCP3 ou une activité de blocage de l'accès d'une ou plusieurs de ces chemokines à leur(s) récepteur(s) cellulaire(s).

30 6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que l'antagoniste est un composé dont la structure est dérivée de la structure d'une chemokine.

35 7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que la chemokine appartient à la famille des chemokines de type CC.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que l'antagoniste est un composé dépourvu des propriétés chemoattractives de la (des) chemokine(s) vis-à-vis des leucocytes, en particulier des lymphocytes.

5 9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que l'antagoniste est dépourvu des propriétés biologiques essentielles de la (des) chemokines, en particulier est dépourvu de la capacité de transduction de signal à partir d'un ou plusieurs récepteurs.

10 10. Utilisation selon la revendication 7, caractérisée en ce que l'antagoniste est un polypeptide dérivé d'une chemokine, dont la structure comprend au moins un, voire deux ponts disulfure.

15 11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que l'antagoniste est un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par substitution, addition ou délétion d'au moins un résidu d'acides aminés, ledit antagoniste étant dépourvu des propriétés chemoattractives de chemokines vis à vis des leucocytes, en particulier des lymphocytes et étant capable de lier un ou plusieurs récepteur(s) de chemokines.

20 12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'antagoniste est un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par délétion de tout ou partie de sa séquence N-terminale comprise entre les résidus d'acides aminés 1 et 15 de la séquence représentée à la figure 1.

25 13. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'antagoniste est un polypeptide répondant à l'une des séquences d'acides aminés suivantes :

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLWV
30 REYINSLEMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPELLW
VREYINSLEMS

5 MPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPEKKW
VREYINSLEMS

MTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVFVTRKNRQVCANPEKK
WVREYINSLEMS

14. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que
10 l'antagoniste est un polypeptide comprenant la séquence d'acides aminés
R9-68 modifiée en position N-terminale par l'addition d'un résidu Glycine et
de tout ou partie de la séquence d'acides aminés de la β -galactosidase.

15. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que
l'antagoniste est un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant
à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par délétion de
tout ou partie de sa séquence C-terminale comprise entre les résidus
d'acides aminés 50 et 68, de préférence 60 et 68 de la séquence
représentée à la figure 1.

16. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que
20 l'antagoniste est un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant
à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par délétion de
tout ou partie de sa séquence N-terminale comprise entre les résidus
d'acides aminés 1 et 8 et de tout ou partie de sa séquence C-terminale
comprise entre les résidus d'acides aminés 50 et 68, de préférence 60 et
25 68 de la séquence représentée à la figure 1.

17. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 11 à 16,
caractérisée en ce que l'antagoniste est un dérivé du polypeptide RANTES
répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1,
comportant la substitution ou la mutation d'environ 5% à environ 10% des

résidus d'acides aminés à l'exception des résidus cystéine conservés impliqués dans la formation de ponts disulfure.

18. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'antagoniste est un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par déletion de tout ou partie de sa séquence N-terminale comprise entre les résidus d'acides aminés 1 et 8 et de tout ou partie de sa séquence C-terminale comprise entre les résidus d'acides aminés 50 et 68, de préférence 60 et 68 de la séquence représentée à la figure 1, ledit polypeptide étant en outre modifié par rapport au polypeptide RANTES par substitution d'au moins un résidu d'acide aminé.

19. Utilisation selon la revendication 17, caractérisée en ce que l'antagoniste répond à l'une des séquences d'acides aminés suivantes :

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLWV

15 REYINSLEMS

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWV
RQYINSLQMS

20 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWV
AQYINSLQMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLW
VREYINSLEMS

25 TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VRQYINSLQMS

30 TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VAQYINSLQMS

20. Séquence de nucléotides comprenant une séquence codant pour un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES répondant à la

séquence d'acides aminés représentée à la figure 1, par délétion de tout ou partie de sa séquence N-terminale, par exemple par délétion des nucléotides codant pour les acides aminés en position 1 à 8 de la séquence du susdit polypeptide RANTES.

5 21. Séquence de nucléotides selon la revendication 20, caractérisée en ce qu'elle code pour un polypeptide antagoniste selon l'une quelconque des revendications 11 à 19.

10 22. Séquence de nucléotides selon l'une quelconque des revendications 20 ou 21, caractérisée en ce qu'elle répond à l'un des 15 enchaînements suivants :

CCCTGCTGCTT TGCCTACATT GCCCGCCAC TGCCCCGTGC
CCACATCAAG GAGTATTCT ACACCAGTGG CAAGTGCTCC
AACCCAGCAG TCGTCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG
15 TGTGTGCCAA CCCAGAGAAG AAATGGGTTTC GGGAGTACAT
CAACTCTTG GAGATGAGCT AG

20 ACACCCCTGCTGCTT TGCCTACATT GCCCGCCAC TGCCCCGTGC
CCACATCAAG GAGTATTCT ACACCAGTGG CAAGTGCTCC
AACCCAGCAG TCGTCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG
TGTGTGCCAA CCCAGAGAAG AAATGGGTTTC GGGAGTACAT
25 CAACTCTTG GAGATGAGCT AG

23. Séquence de nucléotides selon l'une quelconque des revendications 20 à 22, caractérisée en ce qu'elle est insérée dans un vecteur d'expression.

24. Séquence de nucléotides selon la revendication 23, caractérisée en ce que le vecteur d'expression est susceptible d'être administré chez un patient humain.

30 25. Utilisation d'une séquence de nucléotides selon l'une quelconque des revendications 20 à 22 pour la préparation d'un médicament pour le traitement d'une infection virale.

26. Utilisation selon la revendication 25, caractérisée en ce que l'infection est due à un rétrovirus de type VIH.

27. Utilisation d'une séquence de nucléotides comprenant une séquence codant pour un polypeptide dérivé du polypeptide RANTES 5 répondant à la séquence d'acides aminés est représentée à la figure 1, par délétion de tout ou partie de sa séquence N-terminale pour la préparation d'un médicament pour le traitement d'une infection due à un rétrovirus de type VIH.

28. Polypeptide caractérisé en ce qu'il s'agit du produit d'expression 10 dans une cellule hôte, d'une séquence de nucléotides selon l'une quelconque des revendications 20 à 22.

29. Polypeptide caractérisé en ce qu'il répond à l'une des séquences d'acides aminés suivantes :

15 MPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKKW
VREYINSLEMS

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLWW
REYINSLEMS

20 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWW
RQYINSLQMS

25 PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWW
AQYINSLQMS

MTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKK
WWREYINSLEMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLW
VREYINSLEMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
5 VRQYINSLQMS

TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSGKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLW
VAQYINSLQMS

10 30. Polypeptide antagoniste d'une ou plusieurs chemokines choisies
parmi RANTES, MIP ou MCP, caractérisé en ce qu'il est dérivé du
polypeptide RANTES répondant à la séquence d'acides aminés
représentée à la figure 1, par substitution, addition ou délétion d'au moins
un résidu d'acides aminés, ledit antagoniste étant dépourvu des propriétés
15 chemo-attractives des chemokines vis à vis des leucocytes, en particulier
des lymphocytes, ledit polypeptide étant sous forme d'un polypeptide de
fusion, capable de lier le(les) récepteurs cellulaires de RANTES et/ou MIP
et/ou MCP.

31. Composition caractérisée en ce qu'elle comprend, pour
20 l'administration séparée ou simultanée, un composé antagoniste d'une ou
plusieurs molécules de la famille des chemokines tel que défini dans l'une
quelconque des revendications 1 à 19, et un agent actif dans le traitement
ou la prévention d'une infection due à un rétrovirus VIH choisi parmi les
composés ayant une activité anti-transcriptase inverse, ou anti-protéase
25 virale ou une activité antagoniste vis-à-vis du récepteur CD4 présent sur
des lymphocytes infectés par un rétrovirus de type VIH, ou un composé
actif en immunothérapie, ou un composé actif spécifiquement contre une
ou plusieurs infections opportunistes associées à la présence du rétrovirus
VIH chez un patient.

32. Composition selon la revendication 31 ou séquence de nucléotides selon l'une quelconque des revendications 20 à 24 ou polypeptide selon l'une quelconque des revendications 28 à 30, caractérisés en ce qu'elle(il) est formulé(e) pour être libéré(e) avec un effet retard chez un patient auquel il est administré.

FIGURE 1A

1 CCTCCGACAG CCTCTCCACA GGTACCATGA AGGTCTCCGC GGCACGCC GCTGTCATCC
 61 TCATTGCTAC TGCCCTCTGC GTCCTGCAT CTGCC TCCCC ATATCCCTCG GACACCAC
 121 CCTGCTGCTT TGCCCTACATT GCCCCCCAC TGCCCTGTC CCACATCAAG GAGTATTCT
 181 ACACCAGGG CAAGTGGTTC AACCAGGAG TCGTCCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG
 241 TGTTGCCCCA CCCAGAGAA AGATGGGTTCA ACAAATTTGC CTGTTCTGCTTGT
 301 AG GATGGAGA GTCTTGAACT GTCCTTGAACT TACCCACCC GCTCCTTGAAGGGCCAGAT
 361 CCTAGCTGG GAGGCTTCCC CTCACTATCC TACCCACCC GCTGGACGTG GTGGCTCAGC
 421 TCTGACCCAG ACCAGCAGCA GTTACAAAAA CCTTCCCCAG GCTGGGGAT CACTTGAGGT CAGGAGTTG
 481 CTTGTAAATCC CAGCACTTG GGAGGCCAAG GTGGGGATCTAA AAATACAAAAA AATTAGCCGG
 541 AGACAGCTG GCCAACATGA TGAAACCCCA TGTGTACTAA AAATACAAAAA AATTAGCCGT
 601 GCGTGGTAGC GGGCGCTGT AGTCCCAGCT ACTCGGGAGG CTGAGGGAGG AGAATGGCGT
 661 GAACCCGGGA GCGGAGCTG CAGTGAGCC AGATGGCC ACTGCACTCC AGCCTGGCG
 721 ACAGAGCGAG ACTCCGTC AAAAAAA AAAAAAAATACA AAAAAAATACA AAATTTAGCC
 781 GCGTGGTGGC CCACGGCTGT AATCCCAGCT ACTCGGGAGG CTAAGGCGAGG AAAATTGTT
 841 GAACCCAGGA GGTTGGAGGCT GCAGTGAGCT GAGATTGTC CACTTCACCT CAGCCTGGGT
 901 GACAAAGTGA GACTCCGTC CAACAAAC AACAAAC AACAAAC AAAAAAGC TCCCCAACT AAAGCCTAGA
 961 AGAGCTTCTG AGGGCTGT TTGTCAAAAG GAAGTCTCTA GGTTCTGAGC TCTGGCTTGT
 1021 CCTTGGCTT GCAAGGGCTC TGACAAAGG AAGGAAGTCA GCATGGCTCT AGAGGCAAGG
 1081 AAGGGAGGAA CACTGCACCTC TTAAGCTTCC GCCGCTCAA CCCCTCACAG GAGCTTACTG
 1141 GCAAAACATGA AAAATGGGG

FIGURE 1B

TCCCC ATATCCCTCG GACACCAC CCTGCTCTT TGCCCTACATT GCCCCCCAC TGCCCTGC CCACATCAAG GAGTATTCT
 ACACCAGGG CAAGTGGCTCC AACCAGCAG TCGTCCTTGT CACCCGAAAG AACCGCCAAG TGTGTGCCAA CCCAGAGAAG
 AAATGGGTTCA GGGAGTACAT CAACTCTTGT GAGATGAGGT AG

FIGURE 1C

SPYSSDTPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKGKCSNPAAVVFVTRKNRQVCANPEKKWVREYINSLEMS

FIGURE 2A**R9-68**

CCCTGCTGCTT	TGCCTACATT	GCCCGCCCAC	TGCCCCGTGC	CCACATCAAG
GAGTATTCT	ACACCAGTGG	CAAGTGCTCC	AACCCAGCAG	TCGTCTTGT
CACCCGAAAG	AACCGCCAAG	TGTGTGCCAA	CCCAGAGAAG	AAATGGGTTTC
GGGAGTACAT CAACTCTTG GAGATGAGCT AG				

R8-68

ACACCCCTGCTGCTT	TGCCTACATT	GCCCGCCCAC	TGCCCCGTGC	CCACATCAAG
GAGTATTCT	ACACCAGTGG	CAAGTGCTCC	AACCCAGCAG	TCGTCTTGT
CACCCGAAAG	AACCGCCAAG	TGTGTGCCAA	CCCAGAGAAG	AAATGGGTTTC
GGGAGTACAT CAACTCTTG GAGATGAGCT AG				

FIGURE 2B**R9-68**

PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKKWVREYINSLEMS

R8-68

MPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPEKKWVREYINSLEMS

FIGURE 2C

Polypeptides substitués à partir de:

R9-68

(a) PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLWVREYINSLEMS

(b) PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWVRQYINSLQMS

© PCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWVAQYINSLQMS

R8-68

(a) TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPELLWVREYINSLEMS

(b) TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWVRQYINSLQMS

(c) TPCCFAYIARPLPRAHIKEYFYTSKCSNPAVVFVTRKNRQVCANPQLLWVAQYINSLQMS

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C12N15/19 C07K14/52 A61K38/19 // (A61K38/19,38:55)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C07K C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WINTEROE, A.K., ET AL.: "EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF A PORCINE SMALL INTESTINE cDNA LIBRARY" EMBL SEQUENCE DATA LIBRARY, HEIDELBERG, GERMANY, XP002025855 ACCESSION NO. F14636 ---	20,21
X	WO 96 01318 A (+++ ; GROENHOEJ LARSEN CHRISTIAN (DK); GESSER BORBALA (DK)) 18 January 1996 see page 4 - page 5 --- -/-	1-5,8,9

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

2

Date of the actual completion of the international search

17 October 1997

Date of mailing of the international search report

31.10.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Holtorf, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal Application No

PCT/FR 97/00900

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GONG, J-H., ETAL.: "RANTES AND MCP-3 ANTAGONISTS BIND MULTIPLE CHEMOKINE RECEPTORS" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 271, no. 18, 3 May 1996, pages 10521-10527, XP002043933 see page 10525, right-hand column ---	1-22, 25-30
Y	COCCHI, F., ET AL .: "IDENTIFICATION OF RANTES, MIP-1ALPHA AND MIP-1BETA AS THE MAJOR HIV-SUPPRESSIVE FACTORS PRODUCED BY CD8+T CELLS" SCIENCE, vol. 270, 15 December 1995, pages 1811-1815, XP000616644 cited in the application see the whole document ---	1-13, 17-22, 25-27, 29,30
A	GONG, J-H. AND CLARK-LEWIS, I.: "ANTAGONISTS OF MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN 1 IDENTIFIED BY MODIFICATION OF FUNCTIONALLY CRITICAL NH2-TERMINAL RESIDUES" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 181, February 1995, pages 631-640, XP000644794 cited in the application see the whole document ---	1-32
A	WO 95 17092 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC) 29 June 1995 see the whole document ---	1-32
A	WELLS, T.N.C., ET AL.: "PEPTIDES FROM THE AMINO-TERMINUS OF RANTES CAUSE CHEMOTAXIS OF HUMAN T-LYMPHOCYTES" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 211, no. 1, 6 June 1995, pages 100-105, XP002025856 see the whole document ---	1-32
A	HOWARD, O.M.Z., ET AL .: "CHEMOKINES: PROGRESS TOWARD IDENTIFYING MOLECULAR TARGETS FOR THERAPEUTIC AGENTS" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, no. 2, February 1996, pages 46-51, XP002025857 see the whole document ---	1-32
2	-/-	

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZHANG, Y.J., ET AL .: "STRUCTURE/ACTIVITY ANALYSIS OF HUMAN MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 (MCP-1) BY MUTAGENESIS" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 22, 3 June 1994, pages 15918-15924, XP002025858 see the whole document ---	1-32
A	MOSER,B., ET AL .: "INTERLEUKIN-8 ANTAGONISTS GENERATED BY N-TERMINAL MODIFICATION" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 268, no. 10, 5 April 1993, pages 7125-7128, XP002025859 see the whole document ---	1-32
P,X	WO 96 23068 A (GLAXO GROUP LTD ;WELLS TIMOTHY NIGEL CARL (CH); POWER CHRISTINE AN) 1 August 1996 see the whole document	1-5
P,Y	---	1-17, 19-23, 25-27, 29,30
P,X	ARENZANA-SEISDEDOS, F., ET AL .: "HIV BLOCKED BY CHEMOKINE ANTAGONIST" NATURE, vol. 383, 3 October 1996, page 400 XP002025860 see the whole document	1-14,17, 20,29,30
P,Y	---	21,22, 25-27
P,Y	WO 96 38559 A (DANA FARBER CANCER INST INC) 5 December 1996 see the whole document	1-13, 17-23, 25-27, 29,30
P,X	WO 96 17935 A (GLAXO GROUP LTD ;WELLS TIMOTHY NIGEL CARL (CH); PROUDFOOT AMANDA E) 13 June 1996 see page 5, line 30 - line 35	20
P,Y	-----	1-12,17, 20-23, 28,30
2		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No

PCT/FR 97/00900

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9601318 A	18-01-96	AU 2612195 A CA 2194444 A CZ 9700014 A EP 0769054 A FI 970009 A NO 970020 A PL 319429 A	25-01-96 18-01-96 14-05-97 23-04-97 04-03-97 05-03-97 04-08-97
WO 9517092 A	29-06-95	US 5556767 A US 5504003 A AU 7549794 A CA 2179606 A CN 1143894 A EP 0735818 A ZA 9403442 A	17-09-96 02-04-96 10-07-95 29-06-95 26-02-97 09-10-96 20-11-95
WO 9623068 A	01-08-96	AU 4455896 A	14-08-96
WO 9638559 A	05-12-96	NONE	
WO 9617935 A	13-06-96	AU 4120896 A EP 0796330 A FI 972433 A NO 972620 A	26-06-96 24-09-97 06-06-97 06-08-97

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C12N15/19 C07K14/52 A61K38/19 // (A61K38/19, 38:55)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 C07K C12N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WINTEROE, A.K., ET AL.: "EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF A PORCINE SMALL INTESTINE cDNA LIBRARY", EMBL SEQUENCE DATA LIBRARY, HEIDELBERG, GERMANY, XP002025855 ACCESSION NO. F14636 ---	20,21
X	WO 96 01318 A (+++ ; GROENHOEJ LARSEN CHRISTIAN (DK); GESSER BORBALA (DK)) 18 janvier 1996 voir page 4 - page 5 ---	1-5,8,9 -/-



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou être pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

& document qui fait partie de la même famille de brevets

2

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 17 octobre 1997	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 31.10.97
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patenttaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Holtorf, S

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 97/00900

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	GONG, J-H., ET AL.: "RANTES AND MCP-3 ANTAGONISTS BIND MULTIPLE CHEMOKINE RECEPTORS" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 271, no. 18, 3 mai 1996, pages 10521-10527, XP002043933 voir page 10525, colonne de droite --- COCCHI, F., ET AL.: "IDENTIFICATION OF RANTES, MIP-1ALPHA AND MIP-1BETA AS THE MAJOR HIV-SUPPRESSIVE FACTORS PRODUCED BY CD8+T CELLS" SCIENCE, vol. 270, 15 décembre 1995, pages 1811-1815, XP000616644 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-22, 25-30 1-13, 17-22, 25-27, 29,30
A	GONG, J-H. AND CLARK-LEWIS, I.: "ANTAGONISTS OF MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN 1 IDENTIFIED BY MODIFICATION OF FUNCTIONALLY CRITICAL NH2-TERMINAL RESIDUES" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 181, février 1995, pages 631-640, XP000644794 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-32
A	WO 95 17092 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC) 29 juin 1995 voir le document en entier ---	1-32
A	WELLS, T.N.C., ET AL.: "PEPTIDES FROM THE AMINO-TERMINUS OF RANTES CAUSE CHEMOTAXIS OF HUMAN T-LYMPHOCYTES" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 211, no. 1, 6 juin 1995, pages 100-105, XP002025856 voir le document en entier ---	1-32
A	HOWARD, O.M.Z., ET AL.: "CHEMOKINES: PROGRESS TOWARD IDENTIFYING MOLECULAR TARGETS FOR THERAPEUTIC AGENTS" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, no. 2, février 1996, pages 46-51, XP002025857 voir le document en entier ---	1-32
2	-/-	

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	ZHANG, Y.J., ET AL .: "STRUCTURE/ACTIVITY ANALYSIS OF HUMAN MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 (MCP-1) BY MUTAGENESIS" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 22, 3 juin 1994, pages 15918-15924, XP002025858 voir le document en entier	1-32
A	MOSER,B., ET AL .: "INTERLEUKIN-8 ANTAGONISTS GENERATED BY N-TERMINAL MODIFICATION" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 268, no. 10, 5 avril 1993, pages 7125-7128, XP002025859 voir le document en entier	1-32
P,X	WO 96 23068 A (GLAXO GROUP LTD ;WELLS TIMOTHY NIGEL CARL (CH); POWER CHRISTINE AN) 1 août 1996	1-5
P,Y	voir le document en entier	1-17, 19-23, 25-27, 29,30
P,X	ARENZANA-SEISDEDOS, F., ET AL .: "HIV BLOCKED BY CHEMOKINE ANTAGONIST" NATURE, vol. 383, 3 octobre 1996, page 400 XP002025860	1-14,17, 20,29,30
P,Y	voir le document en entier	21,22, 25-27
P,Y	WO 96 38559 A (DANA FARBER CANCER INST INC) 5 décembre 1996	1-13, 17-23, 25-27, 29,30
	voir le document en entier	
P,X	WO 96 17935 A (GLAXO GROUP LTD ;WELLS TIMOTHY NIGEL CARL (CH); PROUDFOOT AMANDA E) 13 juin 1996	20
P,Y	voir page 5, ligne 30 - ligne 35	1-12,17, 20-23, 28,30

2		

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 97/00900

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9601318 A	18-01-96	AU 2612195 A CA 2194444 A CZ 9700014 A EP 0769054 A FI 970009 A NO 970020 A PL 319429 A	25-01-96 18-01-96 14-05-97 23-04-97 04-03-97 05-03-97 04-08-97
WO 9517092 A	29-06-95	US 5556767 A US 5504003 A AU 7549794 A CA 2179606 A CN 1143894 A EP 0735818 A ZA 9403442 A	17-09-96 02-04-96 10-07-95 29-06-95 26-02-97 09-10-96 20-11-95
WO 9623068 A	01-08-96	AU 4455896 A	14-08-96
WO 9638559 A	05-12-96	AUCUN	
WO 9617935 A	13-06-96	AU 4120896 A EP 0796330 A FI 972433 A NO 972620 A	26-06-96 24-09-97 06-06-97 06-08-97

THIS PAGE BLANK (USPTO)